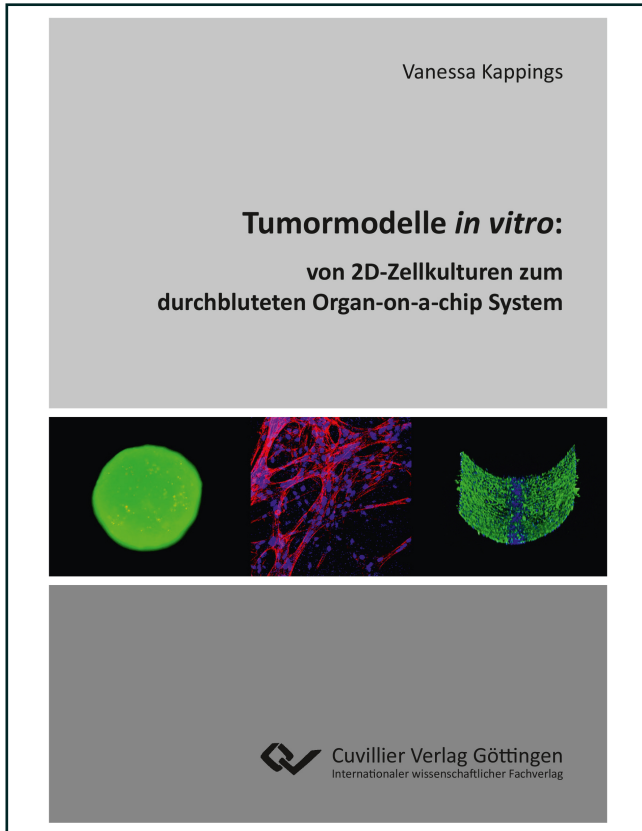




Vanessa Kappings (Autor)

Tumormodelle in vitro

Von 2D-Zellkulturen zum durchbluteten Organ-on-a-chip System



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/7747>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentzsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen, Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>



Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	1
2	Einleitung	3
2.1	Sphäroide.....	4
2.1.1	Rekonstruktion der Tumor-Architektur.....	4
2.1.2	Magnetische Nanopartikel zur medikamentösen Tumorthherapie	7
2.1.3	Rekrutierung von Immunzellen zur Tumorstelle	8
2.2	Hydrogel-basierte 3D-Zellkulturmodelle.....	10
2.2.1	Natürliche Hydrogele für die 3D-Zellkultur	11
2.2.2	Synthetische Hydrogele für die 3D-Zellkultur	12
2.2.3	Mechanische Eigenschaften von Hydrogelen	13
2.2.4	Rekonstruktion der Haut.....	14
2.3	Organ-on-a-chip Systeme.....	15
2.3.1	Rekonstruktion der Blut-Hirn-Schranke	17
3	Ziel der Arbeit	19
4	Ergebnisse und Diskussion.....	20
4.1	Sphäroide.....	20
4.1.1	Wachstumskurven von Tumor-Sphäroiden.....	21
4.1.2	Lebend/Tot Nachweis von Tumor-Sphäroiden	24
4.1.3	Wirkung von Zytostatika (Mitoxantron) auf Tumor-Sphäroide.....	26
4.1.4	Testung von Tumordiagnostika auf Tumor-Sphäroiden.....	29
4.1.5	<i>Tumor-Targeting</i> mit multifunktionalen Nanomaterialien	37
4.1.6	Rekrutierung von Immunzellen zu Tumor-Sphäroiden	40
4.2	3D-Zellkulturmodelle basierend auf Hydrogelen.....	47
4.2.1	Absorptionsbestimmung der Photoinitiatoren	48
4.2.2	Etablierung eines 3D-Dermis-Modells im GelMA-Hydrogel	49
4.2.3	Rheologie der GelMA-Hydrogele	53
4.2.4	Etablierung eines 3D-Vollhautmodells im GelMA-Hydrogel	57
4.2.4.1	Morphologien der verschiedenen Hautzelltypen.....	57
4.2.4.2	Wachstumskurven der Hautzellen	58
4.2.4.3	Charakterisierung des 3D-Vollhautmodells.....	59
4.2.5	Testung von Tumordiagnostika auf dem 3D-Melanoma-Vollhautmodell.....	63
4.2.6	Wirkung von Zytostatika (Mitoxantron) auf 3D-Hydrogel-Modell.....	65



4.3	Organ-on-a-chip Systeme	68
4.3.1	Der vasQchip	69
4.3.1.1	Produktion des vasQchips	70
4.3.1.2	Höhenprofil der Mikrokanäle	71
4.3.1.3	Charakterisierung der Porengröße	72
4.3.1.4	Simulation von Flussprofilen und Scherkräften	75
4.3.2	Etablierung und Charakterisierung des Endothels im vasQchip	76
4.3.3	Etablierung eines vaskularisierten Dermis-Modells im vasQchip	80
4.3.4	Testung von Tumordiagnostika im vaskularisierten Melanoma-Dermis-Modell	83
4.3.5	Rekrutierung von Monozyten im vasQchip	85
4.3.6	Charakterisierung der humanen Blut-Hirn-Schranke im vasQchip	87
4.3.6.1	Morphologien der an der humanen Blut-Hirn-Schranke beteiligten Zelltypen.....	88
4.3.6.2	Wachstumskurven der an der humanen Blut-Hirn-Schranke beteiligten Zelltypen.....	89
4.3.6.3	Charakterisierung der humanen Blut-Hirn-Schranke	90
4.3.7	Funktionalitätstest der humanen Blut-Hirn-Schranke mit BCRP	91
4.3.8	Wirkung von Zytostatika (Mitoxantron) auf Glioblastom-BBB-Modell im vasQchip.....	95
5	Material und Methoden	97
5.1	Material	97
5.1.1	Zelllinien	97
5.1.2	Verbrauchsmaterialien	98
5.1.3	Chemikalien	99
5.1.4	Antikörper	101
5.1.5	Zellkulturmedien	102
5.1.6	Primer	103
5.1.7	Mikroskope.....	104
5.1.8	Geräte.....	105
5.1.9	Software	106
5.2	Methoden	107
5.2.1	Allgemeine Zellkultur	107
5.2.1.1	Beschichtung von Kultivierungsmaterialien	107
5.2.1.2	Kultivierung von adhärenenten Zellen	107
5.2.1.3	Kultivierung von Suspensionzellen	107
5.2.1.4	Präparation von Sphäroiden mittels Hanging-drop-Platten	108
5.2.1.5	Präparation von Tumor-Sphäroiden mittels Agaroseplatten	108
5.2.2	Charakterisierung und Anwendung von Tumor-Sphäroiden	108
5.2.2.1	Wachstumskurven von Tumor-Sphäroiden.....	108
5.2.2.2	Lebend/Tot Nachweis von Tumor-Sphäroiden.....	109



5.2.2.3	Wirkung von Zytostatika (Mitoxantron) auf Tumor-Sphäroide	109
5.2.2.4	Zelluläre Aufnahme von TH-65 in Tumor-Sphäroide	109
5.2.2.5	Testung von Tumordiagnostika auf Tumor-Sphäroiden	109
5.2.2.6	Absorptionsbestimmung der Tumordiagnostika	110
5.2.2.7	<i>Tumor-Targeting</i> mit multifunktionalen Nanomaterialien	110
5.2.2.8	Rekrutierung von Immunzellen zu Tumor-Sphäroiden	111
5.2.2.9	Differenzierung von THP-1 Monozyten	111
5.2.2.10	RT-qPCR der Immunzellen	112
5.2.3	3D-Zellkulturmodelle basierend auf Hydrogelen	113
5.2.3.1	GelMA-Synthese (medium)	113
5.2.3.2	Absorptionsbestimmung der Photoinitiatoren	113
5.2.3.3	Hydrogelpräparation	113
5.2.3.4	Etablierung eines 3D-Dermis-Modells im GelMA-Hydrogel	114
5.2.3.5	Rheologie der GelMA-Hydrogele	115
5.2.3.6	Wachstumskurven der Hautzellen	115
5.2.3.7	Etablierung eines 3D-Vollhautmodells im GelMA-Hydrogel	115
5.2.3.8	Charakterisierung des 3D-Vollhautmodells	116
5.2.3.9	Testung von Tumordiagnostika auf dem 3D-Melanoma-Vollhautmodell	118
5.2.3.10	Wirkung von Zytostatika (Mitoxantron) auf 3D-Hydrogel-Modell	118
5.2.4	Organ-on-a-chip Systeme: der vasQchip	119
5.2.4.1	Produktion des Mikrokanals	119
5.2.4.2	Höhenprofil der Mikrokanäle	119
5.2.4.3	Charakterisierung der Porengröße	120
5.2.4.4	Simulation von Flussprofilen und Scherkräften	120
5.2.4.5	Zusammensetzung und Handhabung des vasQchips	121
5.2.5	Etablierung und Charakterisierung des Endothels im vasQchip	122
5.2.5.1	Beschichtung des vasQchips	122
5.2.5.2	Etablierung des Endothels im vasQchip	122
5.2.5.3	Fixierung, Permeabilisierung und Blockierung von Zellen im vasQchip	123
5.2.5.4	Immunohistochemiefärbung des Endothels im vasQchip	123
5.2.5.5	RT-qPCR der endothelialen <i>Tight Junctions</i> Proteine	123
5.2.6	Testung von Tumordiagnostika im vaskularisierten Melanoma-Dermis-Modell	123
5.2.6.1	Kokultivierung von Fibroblasten und Endothelzellen im vasQchip	123
5.2.6.2	Etablierung eines vaskularisierten Dermis-Modells im vasQchip	124
5.2.6.3	Testung von Tumordiagnostika im vaskularisierten Melanoma-Dermis-Modell	124
5.2.7	Rekrutierung von Monozyten im vasQchip	125
5.2.7.1	Stimulierte Rekrutierung von Monozyten im vasQchip	125
5.2.7.2	Rekrutierung von Monozyten zu Tumor-Sphäroiden im vasQchip	125
5.2.8	Charakterisierung der humanen Blut-Hirn-Schranke im vasQchip	126



5.2.8.1	Wachstumskurven der an der humanen Blut-Hirn-Schranke beteiligten Zelltypen.....	126
5.2.8.2	Etablierung der humanen Blut-Hirn-Schranke im vasQchip	126
5.2.8.3	Charakterisierung der humanen Blut-Hirn-Schranke	127
5.2.8.4	Nachweis von BCRP im Hirnendothel	127
5.2.8.5	Funktionalitätstest der humanen Blut-Hirn-Schranke mit BCRP	128
5.2.8.6	Wirkung von Zytostatika (Mitoxantron) auf Glioblastom-BBB-Modell	128
6	Abkürzungsverzeichnis	129
7	Literatur.....	134
8	Danksagung.....	152